

YALEPIC[®] 磁珠法病原微生物 DNA/RNA 提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Pathogenic Microbes DNA/RNA Extraction Kit

产品货号: YG28001

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Pathogenic Microbes DNA/RNA Extraction Kit 适用于从血液、拭子、痰液、肺泡灌洗液及微生物培养物等生物样本中分离纯化病毒、细菌和真菌等病原微生物的 DNA 及 RNA。本试剂盒操作便捷, 无需使用酚氯仿等有毒试剂, 能最大限度地去除蛋白、无机盐等杂质。纯化的 DNA/RNA 产物适用于多种应用, 包括 PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、全基因组测序分析等。

产品组分

序号	产品组分	YG28001 (96 T)
①	LBP Buffer	80 ml
②	YBL Buffer	21 ml
③	Wash Buffer GA	160 ml
④	Wash Buffer GB	160 ml
⑤	Nuclease-free ddH ₂ O	8 ml
⑥	Proteinase K	3 × 1.3 ml
⑦	Magbeads PM	2 × 1.45 ml
⑧	Lysis Tubes P	96 T

适用范围

1. 血液样本: 新鲜或冻存抗凝全血 ($\leq 400 \mu\text{l}$) 。
2. 体液样本: 0.2 ~ 3ml 新鲜或冻存的肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、痰液等 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞)。
3. 拭子液样本: 0.2 ~ 2ml 鼻、咽、口腔等拭子液 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞) 。
4. 细菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞)、真菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞) 。
5. 粪便样本: 100 mg; 保存液中的粪便样本: 200 μl 。

自备试剂及仪器

异丙醇；2/15ml 磁力架或核酸提取仪；涡旋混匀仪或振荡破碎仪；Nuclease-free 移液器吸头；高速离心机；恒温水浴锅；（如需处理粘稠样本，需自行准备 PBS、NaOH）。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 病原样本处理需在生物安全柜中进行，使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，试剂使用完后立即盖好瓶盖，交叉污染的风险。
3. 使用前检查 **LBP Buffer** 是否出现沉淀，如有沉淀出现，请置于 55 ~ 58°C 水浴重新溶解。
4. **Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 包含无水乙醇，使用后请立即拧紧瓶盖，防止乙醇挥发。
5. 待处理样品应保证新鲜，如果需要储存或运输，最好在 2 ~ 8°C 条件下进行，不可冻融。
6. 如需单独除去 RNA，可在步骤 3 后加入 5 μ l 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，振荡混匀，20 ~ 30°C 放置 10 min。如需单独除去 DNA，在步骤 5 后加 80 μ l DNase I (1U/ μ l) 预混液 (YALI#YX27002)，20 ~ 30°C 孵育 15 min。
7. 请勿冻存 **Magbeads PM**。

实验流程

● 手动操作 (配磁力架)

1. 样本处理:

- 1) 血液、脑脊液等**非粘稠样本**，无需液化处理，直接取样进行实验。
 - 2) **粘稠体液、痰液等**，取 500 μ l 或适量液化后的样本至 1.5ml 离心管 (自备) 中，12,000 rpm 离心 5 min，弃上清，使用 400 μ l PBS (自备) 重悬沉淀。（注：如果痰液粘稠，向痰样本中加入 4 倍体积 4% 氢氧化钠溶液，静置 30 min，待其充分液化）
 - 3) **肺泡灌洗液、胸腹水等**，可先进行离心，去除上清液后，取下层 500 μ l 粘稠样本 (细胞、菌体、少量痰液)，参考痰液样本进行液化处理。
 - 4) **干拭子样本**，将拭子棉签部分在 500 μ l PBS (自备) 中旋转 20 s，取出棉签时尽量将菌液挤出，减少损失。
2. **非粪便样本**：在 **Lysis Tubes P** 中加入 400 μ l 样本、200 μ l **LBP Buffer**、20 μ l **Proteinase K** 涡旋振荡 10 min，或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
- 粪便样本**：在 **Lysis Tubes P** 中加入 100 mg 新鲜或冷冻粪便样本或 200 μ l 保存在粪便保存液中的粪便样本、800 μ l **LBP Buffer**、20 μ l **Proteinase K** 涡旋振荡 10 min，或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
3. 室温 12,000 rpm 离心 1 min，取 500 μ l **上清液** 以及 20 μ l **Proteinase K** 加入新离心管中，涡旋混匀 5 ~ 8 s 后，置于 65°C 孵育 10 min。
 4. 瞬时离心 2 ~ 3 s，在离心管中加 30 μ l **Magbeads PM**、200 μ l **YBL Buffer** 和 350 μ l 异丙醇 (自备)，涡旋混匀 5 ~ 8 s，室温静置 5 min。（注：Magbeads PM 使用前，涡旋充分重悬）

5. 瞬时离心 2 ~ 3 s, 确保管壁无液体残留, 将离心管置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。
6. 在离心管中加入 800 μ l **Wash Buffer GA**, 用移液器吹打 5 ~ 8 次, 将离心管置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。重复此步骤 1 次。
7. 在离心管中加入 800 μ l **Wash Buffer GB**, 用移液器吹打 5 ~ 8 次, 将离心管放置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器小心吸弃所有上清。重复此步骤 1 次。
8. 离心管放置于磁力架上, 开盖晾干 5 min。
9. 在离心管中加入 70 μ l **Nuclease-free ddH₂O**, 用移液器吹打混匀, 置于 56°C 孵育 5 min。
10. 将离心管瞬时离心后, 放置于磁力架上静置 3 min 或至磁珠完全吸附, 用移液器将所有上清转移至新的离心管 (自备) 中。分离纯化的 DNA/RNA 溶液可置于 -20°C 长期保存。

● 全自动核酸纯化仪

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定, 以下流程以 YALEPIC[®] Pure 32 全自动核酸提取仪为例进行说明)

1. **样本前处理**请参考手动操作步骤。
2. **非粪便样本**: 在 **Lysis Tubes P** 中加入 400 μ l 样本、200 μ l **LBP Buffer**、20 μ l **Proteinase K** 涡旋振荡 10 min, 或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
粪便样本: 在 **Lysis Tubes P** 中加入 100 mg 新鲜或冷冻粪便样本或 200 μ l 保存在粪便保存液中的粪便样本、800 μ l **LBP Buffer**、20 μ l **Proteinase K** 涡旋振荡 10 min, 或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
3. 参考下表在 96 深孔板 (自备) 中依次分装试剂:

列数	试剂	体积
第 1、7 列	Wash Buffer GA	800 μ l
	Magbeads PM	30 μ l
第 2、8 列	YBL Buffer	200 μ l
	异丙醇	350 μ l
第 3、9 列	Wash Buffer GA	800 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer GB	800 μ l
第 5、11 列	Wash Buffer GB	800 μ l
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	70 μ l

4. 将步骤 2 处理后的 **Lysis Tubes P** 室温 12,000 rpm 离心 1 min, 取 500 μ l **上清液** 以及 20 μ l **Proteinase K** 加入 96 深孔板的第 2、8 列相应的孔中, 并做好相应的标识。
5. 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中, 装上磁棒套, 确认磁棒套安装到位后, 即可启动程序 **YG28001-Pathogen.ABC**。
6. 程序结束后, 取出深孔板, 将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的离心管 (自备) 中, -20°C 保存。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断